Über Milchsäurebildung aus Kohlehydrat im lackfarbenen Blute.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt der

hohen medizinischen Fakultät

der

Albert-Ludwigs-Universität

zu

Freiburg im Breisgau

von

Walter Griesbach

aus New-York.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Verlagsbuchhandlung von Julius Springer in Berlin.

1913.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Freiburg im Breisgau.

Dekan: Professor Dr. Axenfeld.

Referent: Professor Dr. Straub.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Die Glykolyse im weitesten Sinne, d. h. die zuckerspaltende Kraft tierischer Organe, resp. der Organsäfte, ist auch heute noch ein sehr umstrittenes Gebiet, trotz der vielen auf demselben geleisteten Arbeit.

Kraus[1]), Spitzer[2]), Umber[3]) setzten Glykolyse gleich der oxydativen Tätigkeit im allgemeinen, Lépine[4]) vor allem und Jacoby[5]) glauben an ein glykolytisches Ferment, das unabhängig und artfremd dem oxydativen Prozeß ist.

Vielfach hat man versucht, dieses Ferment aus Organen in zellfreien Preßsäften zu isolieren, anfangs ohne bakterielle Einwirkung genügend zu beachten (Stoklasa[6]), später unter möglichster Asepsis. Man hat den Eindruck, daß außer dem Blut, auf das wir noch ausführlich zu sprechen kommen werden, vielleicht der Leber (Magnus-Levy[7]) und der Muskulatur (Cohnheim[8]) eine glykolytische Wirkung zukommt.

Das Blut besitzt nun in hervorragender, oder wenigstens besonders leicht demonstrierbarer, Weise die Fähigkeit der Glykolyse, so daß Lépine in seiner Monographie über die Zuckerkrankheit[9]) die Glykolyse in engerem Sinne definiert als den nichtoxydativen, zuckerspaltenden Prozeß im Blute. Freilich haben spätere Untersuchungen die ursprüngliche Anschauung Lépines, daß die krankhafte Veränderung des Zuckerstoffwechsels beim Diabetes mellitus im wesentlichen auf einer Störung der glykolytischen Fähigkeit des Blutes beruhte, nicht bestätigen können.

---

[1]) F. Kraus, Zeitschr. f. klin. Med. **31**, 315.

[2]) W. Spitzer, Arch. f. d. ges. Physiol. **60**, 303.

[3]) F. Umber, Zeitschr. f. klin. Med. **39**, 13.

[4]) R. Lépine, Compt. rend. **120**, 139.

[5]) M. Jacoby, Virchows Archiv **157**, 235.

[6]) J. Stoklasa, Arch. f. d. ges. Physiol. **101**, 311; Chem. Ber. Jahrg. 38, 664 ff.

[7]) Magnus-Levy, Beiträge z. chem. Physiol. **2**, 261.

[8]) O. Cohnheim, Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 253 ff.

[9]) R. Lépine, Le Diabéte sucré. Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 151 ff.

Die Produkte des glykolytischen Prozesses waren bis vor kurzem sehr umstritten, und viele Arbeiten über Glykolyse suchen nur die Menge verschwindenden Zuckers festzustellen, ohne sich mit seinen Umwandlungsprodukten zu beschäftigen. Man wußte, es verschwindet Zucker aus dem Blute in vitro — das war schon Claude Bernard, Böhm und Hoffmann bekannt —, man wußte ferner, daß zu diesem Vorgang die Formelemente des Blutes, und zwar in intakter Form, vonnöten sind — Serum allein glykolysiert nicht —, und Lépine hat eine Reihe weiterer Bedingungen, unter denen die Glykolyse gefördert oder geschädigt wird, festgestellt.

Erst Untersuchungen aus der allerletzten Zeit[1]) haben hier aufklärend gewirkt. Es gelang nämlich B. Kraske[2]) und K. Kondo[3]), eine dem verschwundenen Zucker äquivalente Menge Milchsäure nachzuweisen, nachdem durch die Arbeiten von Embden und Kraus[4]) und S. Oppenheimer[5]) die Milchsäure als Abbauprodukt der Kohlenhydrate in der künstlich durchströmten Leber erwiesen war. Diese Versuche wurden fortgesetzt durch K. v. Noorden[6]), der zu zuckerfrei gewaschenen Blutkörperchen Glucose zusetzte und die, aus diesem zugesetzten Zucker entstandene, Milchsäure als d-Milchsäure zu identifizieren vermochte.

Auch über die Wege, die zur Umwandlung eines Glucosemoleküles zu zwei Milchsäuremolekülen führen, konnten ziemlich genaue Vorstellungen gewonnen werden. Es wurde nämlich festgestellt[7]), daß von den beiden Triosen, Glycerinaldehyd und Dioxyaceton, die erstere weitaus stärker als die letztere und auch weit mehr als Traubenzucker durch gewaschene Blutkörperchen und auch in der künstlich durchströmten Leber in Milchsäure umgewandelt wird.

Die hierbei beobachteten sterischen Eigenschaften der entstehenden Milchsäure ließen, unter der Voraussetzung, daß Glycerinaldehyd überhaupt ein intermediäres Produkt des normalen tierischen Kohlenhydratstoffwechsels ist, die Annahme als durchaus zwingend erscheinen, daß die Bildung von Milchsäure aus Glycerinaldehyd unter dauernder Erhaltung der asymmetrischen Beschaffenheit des mittleren Kohlenstoffatomes des Glycerinaldehyds erfolgt. Hierdurch waren mehrere, bis dahin als solche in Betracht kommende Zwischenprodukte bei der Bil-

---

[1]) G. Embden und seine Mitarbeiter, Biochem. Zeitschr. **45**, 1 bis 206.

[2]) B. Kraske, Über Milchsäurebildung im Blute. II. Mitteil. l. c.

[3]) K. Kondo, Über Milchsäurebildung im Blute. III. Mitteil. l. c.

[4]) G. Embden und F. Kraus, Über Milchsäurebildung in der künstlich durchströmten Leber. I. Mitteil. l. c.

[5]) S. Oppenheimer, Über Milchsäurebildung in der künstlich durchströmten Leber. II. Mitteil. l. c.

[6]) K. v. Noorden jr., Über Milchsäurebildung im Blute. IV. Mitteilung l. c.

[7]) G. Embden, K. Baldes und E. Schmitz, Über den Chemismus der Milchsäurebildung aus Traubenzucker im Tierkörper. Biochem. Zeitschr. **45**, 108.

dung von Milchsäure aus Glycerinaldehyd ausgeschlossen, so namentlich Methylglyoxal und Brenztraubensäure.

Bis zum Milchsäurestadium wird also der Zucker auf nicht oxydativem Wege durch Spaltung und Umlagerung abgebaut.

Jeder weitere Zuckerabbau ist oxydativ. Auch oxydative Vorgänge spielen sich zweifellos im Blute ab, wenn auch in geringem Maße. Wie denn Warburg[1]) einen zwar unbedeutenden, beim normalen erwachsenen Menschen nicht mit Sicherheit meßbaren oxydativen Stoffwechsel der intakten Blutkörperchen nachweisen konnte. Dafür sprechen aber auch neue, noch unveröffentlichte Versuche von Embden und Schmitz, die die oxydative Kraft des Blutes durch Blausäure hemmten, und nun eine, vor allem bei jugendlichen Erythrocyten größere, Ausbeute an Milchsäure als ohne Blausäurezusatz erhielten.

Der Versuch, auch aus tierischen Organen, ganz ähnlich wie das durch die Arbeiten von E. und H. Buchner und Hahn[2]) usw. für die Hefezellen gelungen ist, das zuckerspaltende Ferment getrennt von seinem natürlichen Substrat, der lebenden Zelle, zu gewinnen, ist bekanntlich des öfteren gemacht worden.

Für das Blut konnte man es nach Versuchen von P. Rona und A. Döblin[3]) aus dem Jahre 1911 als sicher betrachten, „daß die Glykolyse im Blut hauptsächlich an die intakten Formelemente desselben geknüpft sei", lackfarbenes Blut spaltet Traubenzucker nicht mehr. In demselben Sinne sprachen auch frühere, von Lépine[4]) angeführte Versuche über den Einfluß der Hämolyse auf die Glykolyse.

Ich habe nun eine Reihe von Versuchen angestellt, auf Grund der Auffassung, daß der nichtoxydative Zuckerabbau in mindestens zwei Phasen zerfällt, nämlich erstens in die Spaltung des Traubenzuckers in zwei Moleküle Triose (optisch aktiven Glycerinaldehyd), und zweitens in die Umlagerung des entstandenen aktiven Glycerinaldehyds in die natürliche d-Milchsäure. Diese Auffassung des Chemismus der Milchsäurebildung aus Traubenzucker führte dazu, die Teilnahme mindestens zweier, voneinander verschiedener Fermente an diesem Prozeß anzunehmen, von denen das eine, Zucker in Triose spaltende, offenbar an die Struktur der Zelle in irgendeiner Weise geknüpft

---

[1]) O. Warburg, Zur Biologie der roten Blutzellen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 112.

[2]) E. und H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung.

[3]) P. Rona und A. Döblin, Beiträge zur Frage der Glykolyse. II. Mitteil. Biochem. Zeitschr. 32, 489.

[4]) R. Lépine, l. c.

war, das andere aber möglicherweise, unabhängig von der Zellstruktur, in Lösung gehen konnte.

Um diese Frage zu entscheiden, habe ich meine Versuche an lackfarbenem Rinder- und Hundeblut angestellt, das, wie ich feststellte, unter den von mir gewählten Versuchsbedingungen aus Traubenzucker keine Milchsäure bildete, und habe zu dieser „Blutflüssigkeit“ Glycerinaldehyd zugesetzt. In drei Versuchen habe ich außer Dextrose und Glycerinaldehyd auch Dioxyaceton auf seine milchsäurebildende Fähigkeit untersucht, um die Wertigkeit auch dieser Triose festzustellen.

Methodisches.

Meine Methodik war in allen Versuchen die gleiche. Ich arbeitete nach Möglichkeit unter aseptischen Kautelen, das heißt, unter ausschließlicher Benutzung steriler, eisgekühlter Gefäße bei der Präparation des Blutes. Diese geschah in folgender Weise:

1 l Blut wurde, wie das früher von K. von Noorden beschrieben ist, durch Zentrifugieren vom Serum befreit, die Blutkörperchen wiederum durch Zentrifugieren mit steriler zuckerfreier Ringer-Lösung gewaschen. Dabei erhält man, nach Absaugen der letzten Waschflüssigkeit, ca. $^1/_2$ l Blutkörperchenaufschwemmung. Diese wurde beim Rinderblut mit der doppelten, beim Hundeblut mit der 3fachen Menge destillierten Wassers versetzt und 2 Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Der nunmehr lackfarbenen Flüssigkeit wurden pro 100 ccm verwendeten destillierten Wassers 0,85 g Kochsalz zugesetzt. Dabei veränderte sich das Rinderblut nicht sichtbar. In dem Hundeblut dagegen trat während des Auflösens des Salzes eine Trübung ein und die Flüssigkeit wurde allmählich wieder opak. Ich zentrifugierte unbekümmert darum die Flüssigkeit jetzt wieder, und zwar auf einer großen, sehr rasch laufenden Zentrifuge. Dabei erhielt ich aus dem Hundeblut ein beträchtliches, aus dem Rinderblut ein geringes Sediment, das, wie ich mich überzeugte, aus Leukocyten und beim Hund aus zwar deutlich deformierten, aber noch tingierbaren Erythrocyten bestand. Die überstehende Flüssigkeit wurde abgehebert und wiederum zentrifugiert. Jetzt erhielt ich ein dem Boden anhaftendes Sediment, das aus Stromata bestand und andererseits eine

mikroskopisch von strukturellen Elementen völlig freie klarrote Flüssigkeit. Ich glaube, auf diese Weise das „Blut", soweit das überhaupt ohne ev. schädliche Prozeduren (Ätherschüttelung) möglich ist, zellfrei gemacht zu haben.

Je 50 ccm ursprünglicher Blutkörperchenaufschwemmung entsprechende Mengen hämolytischen Blutes, d. h. je 100 ccm Rinder- und je 150 ccm Hundeblutflüssigkeit (in Versuch 1 und 3 die doppelte Menge, s. Tabelle II) wurden nun versetzt mit je 0,4 g Dextrose bzw. Glycerinaldehyd und Dioxyaceton (in 25 ccm 0,85 %iger Kochsalzlösung gelöst) und 2 Stunden lang in hermetisch verschlossenen, sterilen Glasflaschen im Wasserbade bei 40° gehalten. Dann wurde mit der Schenckschen Methode enteiweißt und nach Entquecksilberung gleiche Filtratmengen bei schwachsaurer Reaktion im Vakuum bei 40° auf ca. 150 ccm eingeengt, alsdann bei phosphorsaurer Reaktion im Lindschen Apparat mit Äther erschöpfend extrahiert und in der im hiesigen Institute üblichen Weise die Milchsäurebestimmungen nach dem von Fürth und Charnaßschen Verfahren angestellt.

Die Ergebnisse sind in der umstehenden Tabelle I zusammengestellt.

Fünf von den 8 Versuchen wurden an Rinderblut (Versuch 1 bis 5), die 3 übrigen an Hundeblut vorgenommen. Aus Kol. 3 geht die Menge Milchsäure hervor, die in dem lackfarbenen Blut aus 100 ccm Blutkörperchen vor dem Stehen bei 40° gefunden wurde. Hierbei ist zu bedenken, daß, wie oben erwähnt, ein Teil der Blutkörperchen, namentlich beim Hundeblut, durch den Wasserzusatz unzerstört blieb und beim Zentrifugieren unter Salzzusatz entfernt war. Beim Rinderblut schwankt der Milchsäuregehalt des sofort verarbeiteten Blutes zwischen 0,0088 % in Versuch 1 und 0,0194 % in Versuch 2. Der in Versuch 5 angegebene Wert ist wohl ein klein wenig zu hoch, weil ich hier auch zu dem sofort verarbeiteten Blute Glycerinaldehyd hinzufügte, wodurch nach den Angaben von Embden, Baldes und Schmitz[1]) und nach einem Vergleich zwischen A_1 und A_2 im Versuch 1 die Milchsäurewerte etwas zu hoch erscheinen. Nach 2stündigem Stehen ohne Zusatz ist in den Versuchen 1 und 2

[1]) l. c.

Tabelle I.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Versuchszahl	Tierart	Auf 100 ccm Blutkörperchen berechnete Menge Milchsäure in g						$B_3 - B_1$ a) Aus Glycerinaldehyd gebildete Milchsäure in g b) in % des zugesetzten Glycerinaldehyds	$B_4 - B_1$ a) Aus Dioxyaceton gebildete Menge Milchsäure in g b) in % des zugesetzten Dioxyacetons	Bemerkungen
		A_1 ohne Zusatz	A_2 mit Zusatz	B_1 ohne Zusatz	B_2 mit Dextrose	B_3 mit Glycerinaldehyd	B_4 mit Dioxyaceton			
1	Rind	0,0088	0,0158	0,0203		0,1475		a) 0,1272 b) 31,8		A_2 mit Glyc.-Ald
2	Rind	0,0194		0,0258	0,0210	0,2556		a) 0,2298 b) 28,7		
3	Rind	0,0095		0,0098	0,0098	0,1204		a) 0,1106 b) 27,8		
4	Rind			0,0110	0,0170	0,2684	0,0378	a) 0,2574 b) 32,0	a) 0,0268 b) 3,3	
5	Rind		0,0138			0,2178		a) 0,2040 b) 25,5		Diff. B_3–A mit Glyc.-Ald
6	Hund			0,0204		0,0936		a) 0,0722 b) 9,1		
7	Hund	0,0212		0,0168	0,0248	0,0930	0,0530	a) 0,0762 b) 9,5	a) 0,0318 b) 3,9	
8	Hund		0,0198	0,0082	0,0062	0,1202	0,0308	a) 0,1120 b) 14,0	a) 0,0110 b) 1,3	A_2 mit Dioxyac.

eine geringe Vermehrung der Milchsäure eingetreten. In den Versuchen 3, 7 und 8 ist eine derartige Vermehrung nicht vorhanden, im Gegenteil, die nach dem Stehen bei 40° gefundenen Werte erscheinen z. T. etwas geringer als die an der sofort bearbeiteten Blutflüssigkeit ermittelten. Jedoch liegen die sämtlichen Verschiedenheiten zwischen den sofort und nach 2 Stunden verarbeiteten Leerbestimmungen innerhalb der Fehlergrenzen der Bestimmung, bis auf den Versuch 1. Wichtiger, als der Vergleich zwischen dem sofort ermittelten und dem nach 2 Stunden ohne Zusatz erhaltenen Milchsäuregehalt, erscheint die Gegenüberstellung der nach 2 stündigem Stehen ohne Zusatz und unter Zusatz von Dextrose, resp. von Glycerinaldehyd und Dioxyaceton gewonnenen Werte. Die Blutflüssigkeiten, die unter Zusatz von Traubenzucker 2 Stunden stehen blieben, zeigen in keinem Falle Abweichungen von den entsprechenden Leerversuchen, die außerhalb der Fehlergrenze der Bestimmung

gelegen sind. In Versuch 3 sind die beiden Werte identisch. In den Versuchen 2 und 8 wurde in dem mit Zucker versetzten Blute etwas weniger, in den Versuchen 4 und 7 etwas mehr als in der entsprechenden Leerbestimmung gefunden. Der höchste bei der Titration ermittelte Unterschied beträgt aber nur 0,7 ccm (s. Tabelle II). Unter den von mir gewählten Versuchsbedingungen erfolgt also im lackfarbenen Blute ein Abbau des Traubenzuckers zu Milchsäure nicht.

Ein Blick auf die Kolonnen 7 und 9, Tabelle I, zeigt nun, daß ganz im Gegensatz dazu die Milchsäurebildung aus Glycerinaldehyd außerordentlich hohe Werte erreichte. Die Menge des umgewandelten Glycerinaldehyds war besonders hoch in den Versuchen am Rinderblut, ganz entsprechend der Erfahrung A. Loebs[1]), daß auch die gewaschenen Blutkörperchen dieser Tierart in besonders hohem Maße Milchsäure aus Glycerinaldehyd bilden. In den ersten 4 Versuchen der Tabelle schwankt die Menge der aus Glycerinaldehyd in Rinderblutflüssigkeit gebildeten Milchsäure zwischen 0,1106 g, in der Blutflüssigkeit aus 100 ccm Blutkörperchen in Versuch 3, bis 0,2574 g in Versuch 4. Für den Versuch 5 steht eine Leerbestimmung B nicht zur Verfügung; legen wir zum Versuch die unter Glycerinaldehydzusatz vorgenommene Leerbestimmung A zugrunde — was nach den oben mitgeteilten Ergebnissen durchaus statthaft ist —, so kommen wir auch in diesem Versuch, in dem, im Gegensatz zu den bisher besprochenen, der Aufenhalt der Blutkörperchen bei 40^0 nur 90 Minuten dauerte, zu dem Werte von 0,2040 g.

Auch in den Versuchen am Hundeblut wurde prinzipiell ganz das gleiche Resultat gewonnen, nur daß die Werte hier sämtlich wesentlich niedriger als am Rinderblut sind. Es schwankt die aus der 100 ccm Blutkörperchen entsprechenden Blutflüssigkeit gebildete Milchsäuremenge zwischen 0,0722 g in Versuch 6 und 0,1120 g in Versuch 8. Die von mir am Hundeblut gewonnenen Werte sind mit den von Embden, Baldes und Schmitz an intakten Blutkörperchen erhaltenen nicht ohne weiteres vergleichbar, da ich, im Verhältnis zu den Blutkörperchen, in meinen Versuchen die doppelte Menge Glycerinaldehyd, wie die eben genannten Autoren, hinzufügte.

[1]) A. Loeb, Biochem. Zeitschr., 49, 413, 1913.

Freilich scheint aus den Versuchen 1 bis 5, die allerdings am Rinderblut vorgenommen wurden, hervorzugehen, daß das Glycerinaldehyd in Milchsäure umlagernde Ferment in so großem Überschusse vorhanden war, daß ein Einfluß der Fermentverdünnung bei meinen Versuchen an Rinderblutflüssigkeit nicht hervortritt. Ich setzte, wie bereits erwähnt, in meinen sämtlichen Versuchen der Blutflüssigkeit die gleichen Glycerinaldehydmengen, nämlich 0,4 g, zu.

In den Versuchen 1 und 3 verwandte ich eine 100 ccm gewaschenen Blutkörperchen entsprechende Menge Blutflüssigkeit, in den Versuchen 2, 4, 5 eine 50 ccm entsprechende. In allen 5 Versuchen ist trotzdem die Menge der aus 0,4 g Glycerinaldehyd gebildeten Milchsäure eine überaus ähnliche (25,5 % in Versuch 5 bis 32,0 % des zugesetzten Glycerinaldehyds in Versuch 4). In Prozenten der angewandten Blutkörperchenmenge erscheint dementsprechend natürlich die Zunahme in den Versuchen mit 100 ccm Blutkörperchen nur halb so groß wie in denen mit 50 ccm.

Mit Dioxyaceton wurden am Hundeblut 2 Versuche (Versuch 7 und 8), am Rinderblut nur einer (Versuch 4, Kolonne 8 und 10, Tabelle I) angestellt. Die in diesen drei Versuchen aus Dioxyaceton erfolgende Milchsäurebildung war weitaus geringer als die Milchsäurebildung aus Glycerinaldehyd, wie besonders deutlich aus einem Vergleich der Kolonnen 9 und 10 hervorgeht. Die Milchsäurebildung aus Dioxyaceton schwankte zwischen 0,0110 g in Versuch 8 und 0,0318 g in Versuch 7. In letzterem Versuche bildete sich aus Dioxyaceton erheblich weniger als die Hälfte der aus Glycerinaldehyd gebildeten Milchsäure, in Versuch 8 weniger als $^1/_{10}$, in Versuch 4 weniger als $^1/_9$.

Auch diese Tatsache entspricht ganz der Feststellung von Embden, Baldes und Schmitz, daß gewaschene Blutkörperchen und auch die künstlich durchblutete Leber aus Dioxyaceton in weitaus geringerem Maße als aus Glycerinaldehyd Milchsäure bilden.

Besonders deutlich tritt der Unterschied in der Milchsäurebildung aus Glycerinaldehyd und Dioxyaceton durch gelöste Blutkörperchen bei einem Vergleich der in Kolonnen 9 und 10 unter „b“ berechneten Werte für die Milchsäurebildung in Prozenten der zugesetzten Triose hervor. In Versuch 4 sind von dem zugesetzten Dioxyaceton nur 3,3 % in Milchsäure um-

gewandelt, während der entsprechende Wert für Glycerinaldehyd 32,0% beträgt, während in dem mit Hundeblut angestellten Versuche 7 die entsprechenden Werte für Milchsäurebildung aus Dioxyaceton und Glycerinaldehyd 3,9% und 9,5%, in Versuch 8, der ebenfalls mit Hundeblut vorgenommen wurde, 1,3% und 14,0% betrugen.

Durch die Untersuchungen von Embden, Baldes und Schmitz wurde festgestellt, daß die aus d-l-Glycerinaldehyd durch Blutkörperchen gebildete Milchsäure ein Gemenge von d-l-Milchsäure und unnatürlicher l-Milchsäure darstellte. Es erschien von Wichtigkeit, zu untersuchen, ob das optische Verhalten der gebildeten Milchsäure auch bei Verwendung zellfreier Blutflüssigkeit dasselbe ist. Das ist nun in der Tat der Fall. In einem mit einer größeren Menge zellfreier Blutflüssigkeit und entsprechend größerer Menge d-l-Glycerinaldehyd angestellten Versuche wurde die in üblicher Weise durch Ätherextraktion gewonnene Milchsäurelösung in das Zinksalz überführt. Die Lösung des Zinksalzes drehte sehr deutlich nach rechts, also im Sinne der unnatürlichen Milchsäure.

Durch fraktionierte Krystallisation konnte aus der Lösung des Zinksalzes ein relativ schwer löslicher Krystallisationsanteil gewonnen werden, der nach Krystallwassergehalt und optischem Verhalten ein Gemenge von racemischer und unnatürlicher Milchsäure darstellte. Aus der Mutterlauge dieser Krystallisation konnte durch Fällung mit Alkohol und mehrmaliges Umkrystallisieren annähernd optisch reines, l-milchsaures Zink dargestellt werden. Die analytischen Daten für die optische Untersuchung, die Krystallwasser- und Zinkbestimmung an den eben besprochenen Zinksalzen und ebenso die analytischen Belege für die Milchsäurebestimmungen, die der Tabelle I zugrunde liegen, sind in dem Protokollauszug (Tabelle II) am Schlusse der Arbeit niedergelegt[1]).

---

[1]) Es gelang nicht, das aus Dioxyaceton gebildete milchsaure Zink zu isolieren, wegen der geringen Menge gebildeter Milchsäure. Doch gelang dies ohne Mühe mit Schweineblut, das erheblich stärker aus Dioxyaceton Milchsäure bildet. Ich erhielt reines, natürliches Zinklactat. Die Untersuchungen darüber, ob Hundeblut aus Dioxyaceton tatsächlich racemische Milchsäure bildet, wie es in einem Versuche von Embden, Baldes und Schmitz den Anschein hatte, werden fortgesetzt.

Die wesentlichsten Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung sind folgende:

1. Es gelingt, aus dem Blute vom Rind und vom Hund zellfreie Blutkörperchenlösungen darzustellen, die, ohne eine Einwirkung auf d-Glucose zu besitzen, die Umlagerung von d-l-Glycerinaldehyd und Dioxyaceton zu Milchsäure in demselben Maße vollziehen wie intakte Blutkörperchen[1]).

2. Blutflüssigkeit bildet aus d-l-Glycerinaldehyd, ebenso wie intakte Blutkörperchen, ein Gemenge von racemischer und l-Milchsäure.

3. Diese Resultate führen zu der Schlußfolgerung, daß die beiden Hauptphasen, in denen die Umwandlung von Triose in Milchsäure erfolgt, in verschiedenem Grade an die Intaktheit der Zellen gebunden sind. Die erste Phase, die nach den Anschauungen Embdens und seiner Mitarbeiter vom Traubenzucker bis zum Glycerinaldehyd führt, war bei meiner Versuchsanordnung nicht mehr erhalten, während die zweite Phase, die Umwandlung von Glycerinaldehyd in Milchsäure, anscheinend völlig ungestört verlief.

4. Am einfachsten dürfte dieses Verhalten so zu erklären sein, daß die Umwandlung von Traubenzucker in Milchsäure durch mindestens zwei verschiedene Fermente erfolgt, von denen das Traubenzucker in Glycerinaldehyd spaltende Ferment bei Schädigung der Zellstruktur überaus leicht zerstört wird, während das zweite, Glycerinaldehyd in Milchsäure umlagernde Ferment durch die gleichen Zellschädigungen unbeeinflußt bleibt.

Analysen.

Zinklactat aus Rinderblut nach dem Stehen mit Glycerinaldehyd (s. oben S. 7):

0,1868 g Substanz enthielten 0,0221 g H_2O.

$(C_3H_5O_3)_2Zn + 2\,H_2O$. Ber. H_2O: 12,89%

Gef. „ : 11,83%

---

[1]) In neuester Zeit ist es P. Rona und F. Arnheim (Biochem. Zeitschr. **48**, 35 ff.) gelungen, das Verschwinden von Traubenzucker auch in lackfarbenem Blute nachzuweisen, wenn sie der Blutalkalescenz entsprechende Mengen Phosphat oder Carbonat sofort nach der Hämolysierung mit destilliertem Wasser zusetzten.

0,1649 g Substanz gaben 0,0561 g ZnO

$(C_3H_5O_3)_2Zn$. Ber. ZnO: 33,34 %

Gef. „ : 34,02 %

Polarimetrische Untersuchung im 2-dcm-Rohr:

0,2014 g wasserfreier Substanz in 19,4650 g H_2O:

Spez. Gewicht bei $22^0 = 1{,}0065$

Ablesung im Mittel: $+ 0{,}19^0$ ($\pm 0{,}01^0$)

Daraus: $[\alpha]_D = + 9{,}20^0$.

Tabelle II.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zahl der Versuche	Dauer des Aufenthaltes bei 40° Min.	Blutkörperchen: lackfarbenes Blut. Verdünnung b. d. Schenckschen Fällung	Verarbeitete Filtratmengen ccm	Bei der Milchsäurebestimmung gebundene $^n/_{10}$-Jodlösung in ccm					
				A_1 ohne Zusatz	A_2 mit Zusatz	B_1 ohne Zusatz	B_2 mit 0,4 g Dextrose	B_3 mit 0,4 g Glycerinaldehyd	B_4 mit 0,4 g Dioxyaceton
1	120	100:200 1200	800	1,30	2,35	3,00	—	21,55	—
2	120	50:100 600	450	1,61	—	2,15	1,75	21,30	—
3	120	100:200 700	500	1,50	—	1,55	1,55	19,10	—
4	120	50:100 350	260	—	—	0,90	1,40	22,00	3,10
5	90	50:100 350	250	—	1,10	—	—	17,30	—
6	120	50:150 450	300	—	—	1,70	—	7,80	—
7	120	50:100 400	280	1,90	—	1,50	2,20	5,25	4,70
8	120	50:150 450	350	—	1,80	0,80	0,60	11,65	3,00

Lebenslauf.

Ich wurde geboren in New York am 7. Oktober 1888. Die Schule besuchte ich in Hamburg von Michaelis 1894 bis Michaelis 1906. Ich legte die Reifeprüfung am Wilhelm-Gymnasium in Hamburg ab. Ich studierte Medizin in Freiburg, München und Kiel. In Freiburg bestand ich am 31. Oktober 1911 das Staatsexamen.